

消化系统肿瘤

DOI:10.13406/j.cnki.cyxh.000396

人肝细胞癌中转录因子 FoxM1 表达与甲胎蛋白产生相关

艾剑刚,陈娟娟,董玉芳,黄世峰,张莉萍

(重庆医科大学附属第一医院检验科,重庆 400016)

【摘要】目的:探讨人肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)中叉头框 M1(forkhead box M1,FoxM1)表达与甲胎蛋白(alpha-fetoprotein,AFP)产生的关系。**方法:**分别采用 Western blot 和荧光定量 PCR(fluorescence quantitative PCR,FQ-PCR)技术检测 52 例 HCC 患者肝癌组织中 FoxM1 蛋白和 AFP mRNA 表达水平,并查询患者术前血清 AFP 水平,分析三者相关性;FoxM1 特异性抑制剂硫链丝菌素(thiostrepton,TST)和重组 FoxM1B 腺病毒(adenovirus combined with FoxM1B gene,Ad-FoxM1B)分别作用人 HepG2 和 HepG2.2.15 肝癌细胞后,FQ-PCR 检测 FoxM1 mRNA 表达变化,Western blot 检测 FoxM1 蛋白表达变化,电化学发光法检测培养基上清 AFP 分泌变化。**结果:**(1)肝癌组织中 FoxM1 蛋白表达水平与组织中 AFP mRNA 表达水平及血清 AFP 分泌水平均呈正相关($r=0.448,P=0.001$; $r=0.381,P=0.005$);(2)下调 FoxM1 表达可明显抑制 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞分泌 AFP ($P_1=0.000,P_2=0.000$);(3)FoxM1 可明显促进 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞表达和分泌 AFP ($P_1=0.000,P_2=0.000$; $P_1=0.001,P_2=0.000$)。**结论:**人肝细胞癌中 FoxM1 与 AFP 的表达密切相关,FoxM1 可能在促进 AFP 表达中发挥重要作用。

【关键词】人肝细胞癌;叉头框 M1;甲胎蛋白;甲胎蛋白 mRNA

【中图分类号】R735.7

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-02-14

Forkhead box 1 correlates with alpha-fetoprotein production in human hepatocellular carcinoma

Ai Jiangang, Chen Juanjuan, Dong Yufang, Huang Shifeng, Zhang Liping

(Department of Laboratory, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the relationship between forkhead box M1 (FoxM1) and alpha-fetoprotein (AFP) in human hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** AFP mRNA and FoxM1 protein in 52 HCC tissues were validated by fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR) and Western blot. Data of preoperative serum AFP secretion were collected, and the correlation among FoxM1, AFP mRNA and serum AFP were analyzed. HepG2 and HepG2.2.15 cells were treated with thiostrepton (TST) and adenovirus combined with FoxM1B gene. Changes of FoxM1 mRNA and protein were quantified by FQ-PCR and Western blot. AFP in culture supernatant was detected by electrochemiluminescence method. **Results:** (1) The expression of FoxM1 protein was positively correlated with AFP mRNA and serum AFP ($r=0.448,P=0.001$; $r=0.381,P=0.005$). (2) The decreased expression of FoxM1 could decrease the secretion of AFP in HepG2 and HepG2.2.15 cells ($P_1=0.000,P_2=0.000$). (3) FoxM1 could increase the expression and secretion of AFP in HepG2 and HepG2.2.15 cells ($P_1=0.000,P_2=0.000$; $P_1=0.001,P_2=0.000$). **Conclusion:** FoxM1 protein expression correlates with both in vivo and in vitro AFP production in HCC. FoxM1 possibly play an important role in regulating the expression of AFP.

【Key words】hepatocellular carcinoma; forkhead box M1; alpha-fetoprotein; alpha-fetoprotein mRNA

长期以来,甲胎蛋白(alpha-fetoprotein,AFP)作

为肝脏特异性肿瘤标志物被人们所熟知,在人肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)的发生、发展、诊断和疗效评估中具有重要价值^[1]。正常情况下,AFP 仅在胎肝中高表达,出生后不久快速下调至极低水平,当肝细胞再生或癌变时,AFP 基因转录即被重新活化而分泌到血清中^[2]。但是,关于 AFP 基因在 HCC 发生过程中被重新活化的分子机制仍未完全解开^[3]。

叉头框 M1(forkhead box M1,FoxM1)转录因子

作者介绍:艾剑刚,Email:ajg2007@126.com,

研究方向:肝癌及肝硬化。

通信作者:张莉萍,Email:Liuzhangcq@yahoo.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:30973378,81071621、81101826,81272545);重庆市自然科学基金资助项目(编号:2010BB5390);重庆市卫生局资助项目(编号:2010-2-090);国家临床重点专科建设基金资助项目(编号:财社[2010]305号)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000396.html

是叉头框转录因子(forkhead/winged helix transcription factor)家族中的一员,仅特异性表达于增殖期细胞中^[4],其表达水平与 HCC 的发生、发展密切相关,是 HCC 细胞去分化、恶性生长和增殖所必需的转录因子^[5-6]。以上结果提示 FoxM1 在肝细胞中的表达模式与 AFP 基因激活存在时空一致性,但是关于 FoxM1 是否参与 AFP 基因转录再活化尚未见报道。本研究拟从体内外两个水平探讨 FoxM1 与 AFP 基因转录再活化的关系,以期解答这个问题。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 组织 收集 2010 年 4 月至 2012 年 6 月期间重庆医科大学附属第一医院肝胆外科经手术切除的 HCC 癌组织标本 52 例(男性 43 例,女性 9 例,年龄 27~75 岁),术前未进行放疗和化疗,并以同期手术切除的 3 例(男性 2 例,女性 1 例,年龄 35~71 岁)正常肝组织标本作为阴性对照,所有标本均经病理确诊。

1.1.2 细胞和主要试剂 人肝癌细胞株(HepG2 和 HepG2.2.15)由重庆医科大学感染性疾病实验室惠赠;MEM 细胞培养基和胎牛血清购自美国 HyClone 公司;硫链丝菌素(thiostrepton, TST)购自瑞士 Enzo 公司;重组 FoxM1B 腺病毒(adenovirus combined with FoxM1B gene, Ad-FoxM1B)、绿色荧光蛋白腺病毒(adenovirus combined with green fluorescent protein gene, Ad-GFP)由上海生博医学生物工程科技有限公司合成;总 RNA 提取试剂盒购自美国 Promega 公司;PrimeScript[®]反转录试剂盒和 SYBR[®]荧光定量 PCR(fluorescence quantitative PCR, FQ-PCR)试剂盒购自大连 TaKaRa 公司;蛋白提取试剂盒(RIPA)购自碧云天生物技术研究;PCR 引物由上海 Invitrogen 公司合成;鼠抗人 FoxM1 单克隆抗体购自英国 Abcam 公司,鼠抗人 GAPDH 单克隆抗体、鼠抗人 β -Tubulin 单克隆抗体和辣根过氧化物酶结合的羊抗鼠单克隆抗体购自碧云天生物技术研究。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞均用含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基,于含 5% CO₂、37 °C 细胞培养箱中培养。

1.2.2 TST 处理细胞 HepG2 细胞以每瓶 4.0×10^6 个细胞铺瓶, HepG2.2.15 细胞以每瓶 3.2×10^6 个细胞铺瓶, 5%

CO₂、37 °C 培养 24 h 后使用终浓度为 4 μ mol/L 的 TST 作用 HepG2 细胞,终浓度为 2 μ mol/L 的 TST 作用 HepG2.2.15 细胞,均作用 24 h 和 48 h。

1.2.3 腺病毒感染 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞均以每孔 1.5×10^5 个细胞铺 6 孔板, 5% CO₂、37 °C 培养 24 h 后分别使用重组 FoxM1B 腺病毒和 GFP 腺病毒感染细胞,均作用 24 h 和 48 h。

1.2.4 AFP mRNA 表达水平检测 参照 Promega 公司说明书,分别提取肝癌组织、正常肝组织、TST 处理后细胞、重组腺病毒感染后细胞的总 RNA 进行 FQ-PCR。引物由 Primer 5.0 软件设计并经 BLAST 确认,AFP 和 GAPDH 的上下游引物见表 1。FQ-PCR 扩增条件:95 °C 30 s 预变性,95 °C 5 s, 60 °C 34 s 共 40 个循环进行 PCR 反应,最后 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s 1 个循环结束反应。每次实验均重复 3 次,每次均做空白对照(以双蒸水代替 cDNA 模板)。结果以 GAPDH 作为内参,以相应的正常组织或对照组作为对照,用 $\Delta\Delta C_t$ 值法进行定量。

1.2.5 FoxM1 蛋白表达检测 参照 RIPA 试剂盒说明书,分别提取肝癌组织蛋白、TST 处理 24 h 和 48 h 后各组细胞蛋白、重组 FoxM1B 和 GFP 腺病毒感染 48 h 后腺病毒各组细胞蛋白,BCA 法测定总蛋白含量后进行 Western blot。一抗为鼠抗人 FoxM1 单克隆抗体 (1:400) 和鼠抗人 GAPDH 或 β -Tubulin 单克隆抗体(1:1 000),二抗为辣根过氧化物酶结合的羊抗鼠单克隆抗体(1:3 500),以 FoxM1 与 GAPDH 或 β -Tubulin 的光密度比值表示每个标本中 FoxM1 相对含量。

1.2.6 细胞培养基上清 AFP 水平检测 分别收集 TST 处理 24 h 和 48 h 后各组细胞培养基上清、重组 FoxM1B 和 GFP 腺病毒感染 48 h 后各组细胞培养基上清,用罗氏 E170 电化学发光自动免疫分析仪测定各组细胞培养基中的 AFP 含量。

1.3 统计学分析

实验数据采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析,实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组实验组之间的比较采用析因设计的方差分析或单因素方差分析,相关性分析采用 Pearson 相关性分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 HCC 患者肝癌组织中 FoxM1 蛋白表达水平与 AFP mRNA 表达水平及术前血清 AFP 分泌水平正相关

HCC 患者肝癌组织中 FoxM1 蛋白与组织中 AFP mRNA

表 1 FQ-PCR 所用的引物序列
Tab.1 Primer sequences for FQ-PCR

基因名称	上游引物	下游引物	产物大小
AFP	5'-TGCAGCCAAAGTGAAGAGGGAAGA-3'	5'-CATAGCGAGCAGCCCAAAGAAGAA-3'	217 bp
FoxM1	5'-CTACCCACCTTCTGGCAGTC-3'	5'-CTACCCACCTTCTGGCAGTC-3'	139 bp
GAPDH	5'-GAGTCAACGGATTGCTCGT-3'	5'-TTGATTTTGGAGGGATCTCG-3'	238 bp

及术前血清 AFP 三者之间的关系见图 1, HCC 患者肝癌组织中 FoxM1 蛋白表达水平与 AFP mRNA 表达水平 ($r=0.448, P=0.001$, 图 1A) 及血清 AFP 分泌水平 ($r=0.381, P=0.005$, 图 1B) 正相关, 肝癌组织中 AFP mRNA 表达水平与血清中 AFP 分泌水平正相关 ($r=0.542, P=0.000$, 图 1C)。

2.2 TST 作用人肝癌 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞后对 FoxM1 的表达及 AFP 分泌的影响

2.2.1 TST 对细胞内 FoxM1 mRNA 和蛋白表达的抑制效果 FQ-PCR 结果见图 2A, Western blot 结果见图 2B, 4 $\mu\text{mol/L}$ 和 2 $\mu\text{mol/L}$ TST 分别作用 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞 24 h 和 48 h 后 FoxM1 mRNA 和蛋白在空白组和实验组中表达量的比较分析结果见表 2、3。

表 2 FoxM1 mRNA 在空白组和实验组的表达量及其分析比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab.2 Expression of FoxM1 mRNA in blank and experimental groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HepG2		HepG2.2.15	
	24 h	48 h	24 h	48 h
空白组	1.000 $\pm$ 0.056	0.924 $\pm$ 0.051	1.000 $\pm$ 0.074	0.996 $\pm$ 0.021
实验组	0.427 $\pm$ 0.028	0.359 $\pm$ 0.022	0.360 $\pm$ 0.028	0.291 $\pm$ 0.026

注: HepG2 细胞中 TST 作用的分组效应 ($F=564.1, P=0.000$), 处理时间效应 ($F=9.116, P=0.017$), 交互作用 ($F=0.028, P=0.872$); HepG2.2.15 细胞中 TST 作用的分组效应 ($F=743.8, P=0.000$), 处理时间效应 ($F=2.257, P=0.171$), 交互作用 ($F=1.759, P=0.221$)

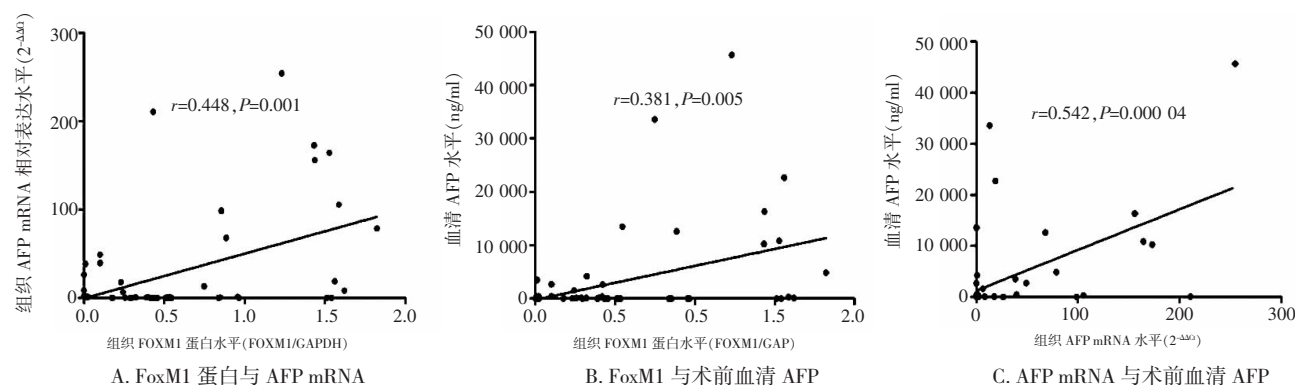


图 1 52 例 HCC 患者肝癌组织中 FoxM1 蛋白与 AFP mRNA 表达水平及术前血清 AFP 分泌水平三者之间的关系
Fig.1 Correlation among the expressions of FoxM1 protein, AFP mRNA and preoperative serum AFP in 52 HCC

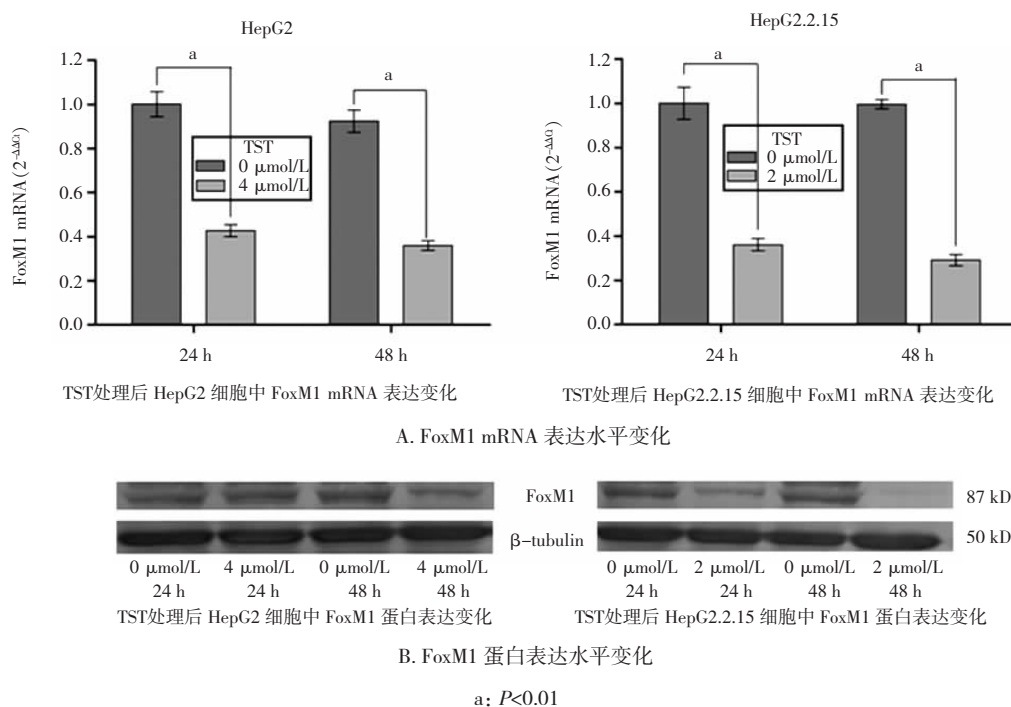


图 2 4 $\mu\text{mol/L}$ 和 2 $\mu\text{mol/L}$ TST 分别作用 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞 24 h 和 48 h 后 FoxM1 mRNA 和蛋白表达水平变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.2 Changes of FoxM1 mRNA and protein in HepG2 and HepG2.2.15 cells after using 4 $\mu\text{mol/L}$ and 2 $\mu\text{mol/L}$ TST for 24 h and 48 h ($\bar{x} \pm s, n=3$)

表 3 FoxM1 蛋白在空白组和实验组的表达量及分析比较
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab.3 Expression of FoxM1 protein in blank and experimental group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HepG2		HepG2.2.15	
	24 h	48 h	24 h	48 h
空白组	0.459 ± 0.029	0.465 ± 0.030	0.375 ± 0.033	0.419 ± 0.012
实验组	0.379 ± 0.026	0.200 ± 0.042	0.177 ± 0.025	0.036 ± 0.049

注: HepG2 细胞中 TST 作用的分组效应 ($F=84.71, P=0.000$), 处理时间效应 ($F=21.1, P=0.002$), 交互作用 ($F=24.66, P=0.001$); HepG2.2.15 细胞中 TST 作用的分组效应 ($F=233.9, P=0.000$), 处理时间效应 ($F=6.574, P=0.033$), 交互作用 ($F=23.86, P=0.001$)

2.2.2 TST 抑制细胞培养基上清 AFP 的分泌 培养基上清 AFP 检测结果见图 3。4 $\mu\text{mol/L}$ 和 2 $\mu\text{mol/L}$ TST 分别作用 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞 24 h 和 48 h 后, 空白组和实验组培养基上清 AFP 分泌水平的比较, 分析结果见表 4。

2.3 重组 FoxM1B 腺病毒感染人肝癌细胞后 FoxM1 的表达效果及对 AFP 表达与分泌的影响

2.3.1 重组 FoxM1B 腺病毒感染后 FoxM1 在 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞的表达效果检测 Western blot 结果见图 4, 重组 FoxM1B 和 GFP 腺病毒感染 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞

48 h 后, FoxM1 蛋白在重组 FoxM1B 腺病毒感染组中高效表达。

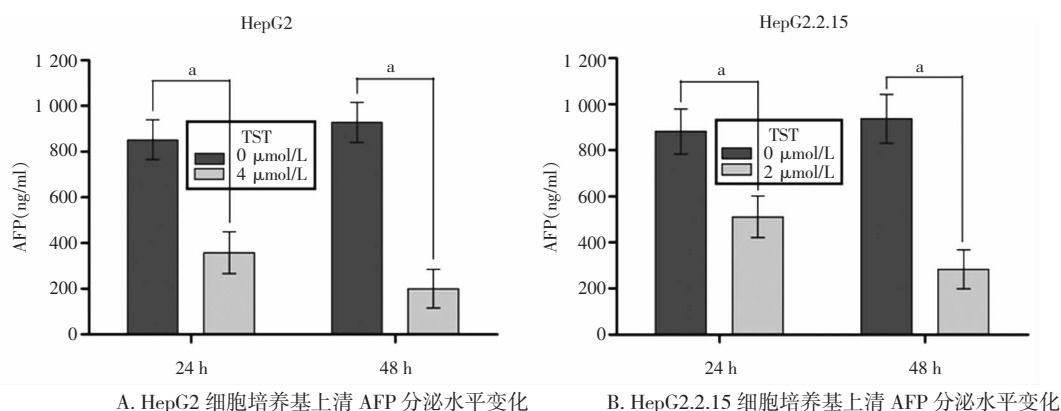
2.3.2 重组 FoxM1B 腺病毒感染人肝癌细胞后促进 AFP mRNA 的表达和 AFP 的分泌 FQ-PCR 结果见图 5A, 电化学发光法结果见图 5B, 重组 FoxM1B 和 GFP 腺病毒感染 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞后 CO 组、GFP 腺病毒感染组和重组 FoxM1B 腺病毒感染组中, AFP mRNA 的表达量和培养基上清 AFP 的分泌水平比较, 分析结果见表 5、6。

表 4 TST 作用后空白组和实验组细胞上清 AFP 分泌水平及其分析比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab.4 Secretion level of AFP in culture supernatant of HepG2 and HepG2.2.15 cells in blank and experimental group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HepG2		HepG2.2.15	
	24 h	48 h	24 h	48 h
空白组	851.6 ± 87.8	927.6 ± 88.3	882.4 ± 98.1	937.1 ± 105.9
实验组	357.7 ± 91.6	200.4 ± 84.7	511.8 ± 90.1	283.8 ± 84.3

注: HepG2 细胞中 TST 作用的分组效应 ($F=144.2, P=0.000$), 处理时间效应 ($F=0.637, P=0.448$), 交互作用 ($F=5.261, P=0.051$); HepG2.2.15 细胞中 TST 作用的分组效应 ($F=87.22, P=0.000$), 处理时间效应 ($F=2.501, P=0.152$), 交互作用 ($F=6.649, P=0.033$)



a: $P < 0.01$

图 3 4 $\mu\text{mol/L}$ 和 2 $\mu\text{mol/L}$ TST 分别作用 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞 24 h 和 48 h 后培养基上清 AFP 分泌水平变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.3 Change of AFP in culture supernatant of HepG2 and HepG2.2.15 cells after using 4 $\mu\text{mol/L}$ and 2 $\mu\text{mol/L}$ TST for 24 h and 48 h ($\bar{x} \pm s, n=3$)

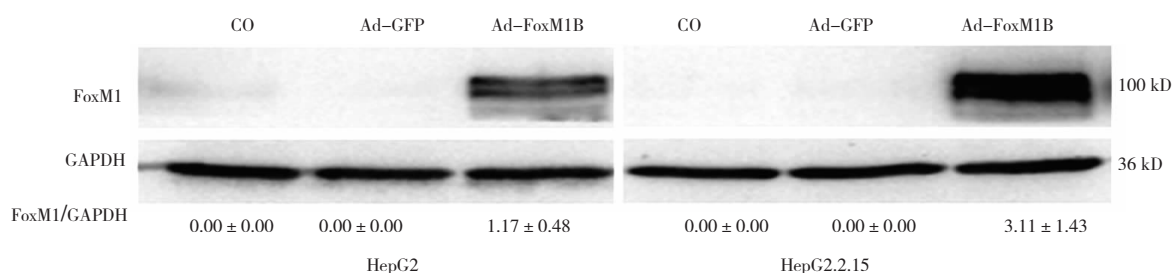
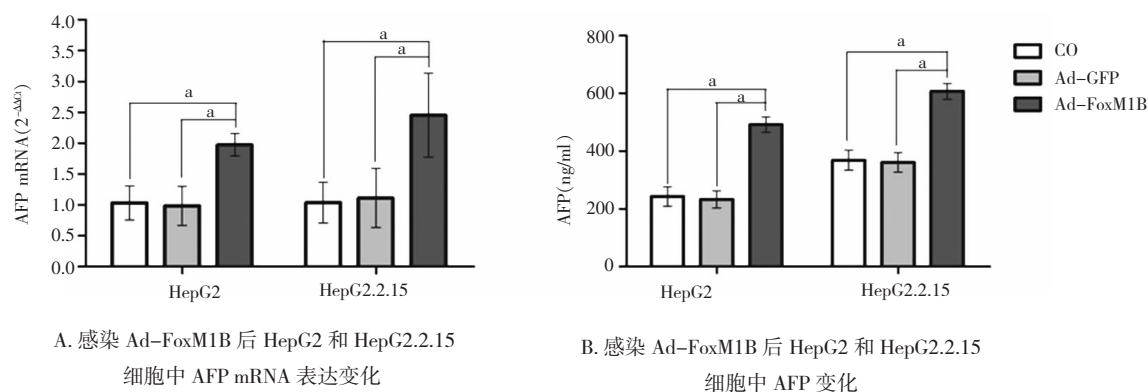


图 4 重组 FoxM1B 腺病毒感染 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞后 FoxM1 蛋白表达情况

Fig.4 Changes of FoxM1 protein in HepG2 and HepG2.2.15 cells after being infected by Ad-FoxM1B

a: $P < 0.01$ 图 5 重组 FoxM1B 腺病毒感染 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞后 AFP mRNA 表达水平和 AFP 分泌水平变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig.5 Changes of AFP mRNA and protein in HepG2 and HepG2.2.15 cells after infected by Ad-FoxM1B ($\bar{x} \pm s, n=3$)表 5 AFP mRNA 在 CO 组、Ad-GFP 组和 Ad-FoxM1B 组的表达量及其分析比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Tab.5 Expression of AFP mRNA in blank, Ad-GFP and Ad-FoxM1B groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HepG2	HepG2.2.15
CO	1.034 ± 0.278	1.038 ± 0.334
Ad-GFP	0.987 ± 0.317	1.111 ± 0.480
Ad-FoxM1B	1.977 ± 0.182	2.455 ± 0.679
F 值	39.96	21.41
P 值	0.000	0.000

注: HepG2 细胞中 Ad-FoxM1B 组与 CO 组及 Ad-GFP 组比较 ($P_1=0.000, P_2=0.000$), CO 组与 Ad-GFP 组比较 ($P=0.714$); HepG2.2.15 细胞中 Ad-FoxM1B 组与 CO 组及 Ad-GFP 组比较 ($P_1=0.000, P_2=0.000$), CO 组与 Ad-GFP 组比较 ($P=0.766$)

表 6 CO 组、Ad-GFP 组和 Ad-FoxM1B 组中培养基上清 AFP 分泌量及其分析比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Tab.6 Change of AFP in culture supernatant in blank, Ad-GFP and Ad-FoxM1B groups ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	HepG2	HepG2.2.15
CO	243.4 ± 33.5	369.0 ± 34.3
Ad-GFP	233.5 ± 29.5	361.2 ± 33.8
Ad-FoxM1B	525.5 ± 81.7	607.4 ± 27.8
F 值	28.53	56.89
P 值	0.001	0.000

注: HepG2 细胞中 Ad-FoxM1B 组与 CO 组及 Ad-GFP 组比较 ($P_1=0.001, P_2=0.000$), CO 组与 Ad-GFP 组比较 ($P=0.828$); HepG2.2.15 细胞中 Ad-FoxM1B 组与 CO 组及 Ad-GFP 组比较 ($P_1=0.000, P_2=0.000$), CO 组与 Ad-GFP 组比较 ($P=0.777$)

3 讨论

长期以来, AFP 作为肝脏特异性肿瘤标志物被人们所熟知。近年的研究发现, AFP 不仅可作为肝

脏肿瘤标志物用于 HCC 的诊断和疗效评估, 亦是一种可促进 HCC 发生的重要癌性信号分子, 其再活化在肝细胞恶性转化和 HCC 的发生发展过程中发挥重要作用^[7-9]。AFP 基因转录调控序列是公认的肝癌特异性转录调控区域, 临床上利用 AFP 调控序列进行 HCC 靶向治疗的策略已显示出诱人的应用前景^[10]。因此, 深入研究 AFP 基因在 HCC 发生过程中再活化的分子机制, 可为临床 HCC 特异性分子靶向治疗提供新靶点。

FoxM1 是 Fox 转录因子家族的一员, 高表达于包括 HCC 在内的多种恶性肿瘤中, 参与肿瘤的发生、发展^[11-13]。在肝脏代谢和增殖等功能中发挥重要作用的 Fox 家族成员有 FoxA2、FoxA1、FoxO1 和 FoxM1 等^[13]。其中, FoxA2 和 FoxA1 已被证实对 AFP 具有转录调控作用。FoxA2 转录因子可通过与 AFP 基因上 -850 bp 处启动子和 -1 450 bp 处 E3 增强子等顺式作用元件相结合而激活 AFP 基因转录^[14]; 而 FoxA1 可作为“先锋转录因子”, 在胚胎干细胞分化过程中通过易化 TGF- β 信号通路中 SMAD2 和 SMAD4 等关键转录因子与 AFP 启动子相结合的方式促进 AFP 转录^[15]。同源性分析发现, FoxM1B 和 FoxA1 的翼状螺旋 DNA 结合域有 39% 的同源序列^[16], 提示 FoxM1 存在与 AFP 转录调控序列相结合的结构基础。

本研究结果证实, HCC 患者肝癌组织中 FoxM1 蛋白表达水平与 AFP mRNA 表达水平及血清 AFP 分泌水平正相关, 肝癌组织中 AFP mRNA 表达水平与血清中 AFP 分泌水平正相关, 提示肝癌发生过程中 FoxM1 的表达与 AFP 的转录与分泌有关。另外, 本研究通过使用 FoxM1 特异性抑制剂硫链丝菌素

下调人肝癌 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞中 FoxM1 的表达发现:随着 FoxM1 蛋白表达水平的降低,培养基上清 AFP 分泌水平亦显著性降低;相反,重组 FoxM1B 腺病毒感染人肝癌 HepG2 和 HepG2.2.15 细胞后,FoxM1 的表达可显著促进细胞中 AFP mRNA 的表达和培养基上清中 AFP 的分泌,提示 FoxM1 可能通过直接调控 AFP 的转录而调节 AFP 的表达。本研究推测:在人肝细胞癌的发生过程中,FoxM1 可能通过直接与 AFP 顺式作用元件结合,激活 AFP 基因转录,进而上调 AFP 的表达,促进肝细胞的增殖而发生恶性转化。但是,关于 FoxM1 激活 AFP 基因转录的具体机制仍有待进一步研究。

本研究从体内外两方面证实了 FoxM1 与 AFP 基因转录及分泌的关系,为进一步研究 FoxM1 是否能够通过结合 AFP 基因调控序列而激活 AFP 基因转录、促进 AFP 表达与释放,进而引起肝细胞增殖加速而发生恶性转化的分子机制提供了依据,也为研究肝癌恶性转化的分子机制提供了新的思路。

参 考 文 献

- [1] Asahina Y, Tsuchiya K, Nishimura T, et al. α -fetoprotein levels after interferon therapy and risk of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*, 2013, 58(4): 1253–1262.
- [2] Abelev GI, Eraiser TL. Cellular aspects of alpha-fetoprotein reexpression in tumors[C]. *Semin Cancer Biol*, 1999, 9(2): 95–107.
- [3] Peterson ML, Ma C, Spear BT. Zfx2 and Zfx20: novel regulators of postnatal alpha-fetoprotein repression and their potential role in gene reactivation during liver cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2011, 21(1): 21–27.
- [4] Wierstra I, Alves J. FOXM1, a typical proliferation-associated transcription factor[J]. *Biol Chem*, 2007, 388(12): 1257–1274.
- [5] Kalinichenko VV, Major ML, Wang X, et al. Foxm1b transcription factor is essential for development of hepatocellular carcinomas and is negatively regulated by the p19ARF tumor suppressor[J]. *Genes Dev*, 2004, 18(7): 830–850.
- [6] Calvisi DF, Pinna F, Ladu S, et al. Forkhead box M1B is a determinant of rat susceptibility to hepatocarcinogenesis and sustains ERK activity in human HCC[J]. *Gut*, 2009, 58(5): 679–687.
- [7] Li M, Li H, Li C, et al. Alpha-fetoprotein: A new member of intracellular signal molecules in regulation of the PI3K/AKT signaling in human hepatoma cell lines[J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(3): 524–532.
- [8] Li C, Wang S, Jiang W, et al. Impact of intracellular alpha fetoprotein on retinoic acid receptors-mediated expression of GADD153 in human hepatoma cell lines[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(4): 754–764.
- [9] Wang S, Jiang W, Chen X, et al. Alpha-fetoprotein acts as a novel signal molecule and mediates transcription of Fn14 in human hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2012, 57(2): 322–329.
- [10] Li W, Li DM, Chen K, et al. Development of a gene therapy strategy to target hepatocellular carcinoma based inhibition of protein phosphatase 2A using the α -fetoprotein promoter enhancer and pgk promoter: an in vitro and in vivo study[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12(1): 547–556.
- [11] Li Q, Zhang N, Jia Z, et al. Critical role and regulation of transcription factor FoxM1 in human gastric cancer angiogenesis and progression[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(8): 3501–3509.
- [12] Bellelli R, Castellone MD, Garcia-Rostan G, et al. FOXM1 is a molecular determinant of the mitogenic and invasive phenotype of anaplastic thyroid carcinoma[J]. *Endocrine-related Cancer*, 2012, 19(5): 695–710.
- [13] Kaestner KH. The Fox genes in the liver: from organogenesis to functional integration[J]. *Physiological Reviews*, 2010, 90(1): 1–22.
- [14] Lee CS, Friedman JR, Fulmer JT, et al. The initiation of liver development is dependent on Foxa transcription factors[J]. *Nature*, 2005, 435(7044): 944–947.
- [15] Taube JH, Allton K, Duncan SA, et al. Foxa1 functions as a pioneer transcription factor at transposable elements to activate Afp during differentiation of embryonic stem cells[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(21): 16135–16144.
- [16] Costa RH, Kalinichenko VV, Holterman AXL, et al. Transcription factors in liver development, differentiation, and regeneration[J]. *Hepatology*, 2003, 38(6): 1331–1347.

(责任编辑:冉明会)

《重庆医科大学学报》
在线投稿网址: cyxb.alljournals.ac.cn